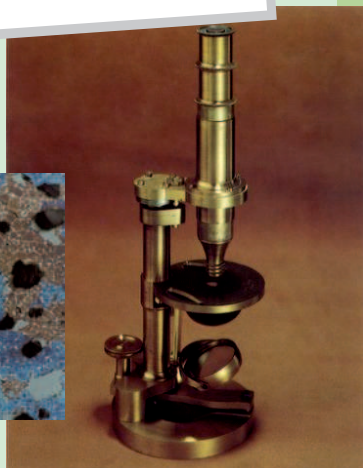
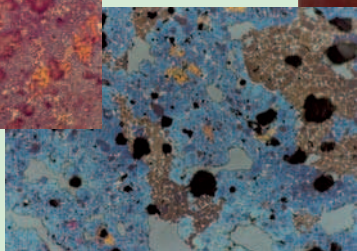
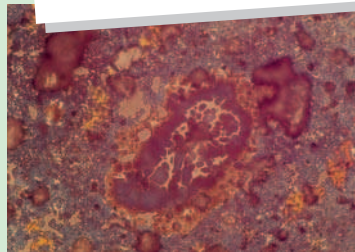


MIKROSKOP

Mikroskopom nazývame optický prístroj, ktorý slúži na to, aby opticky zväčšil malé predmety tak, aby sme na nich mohli rozoznať detaily, ktoré sú voľným okom neviditeľné.

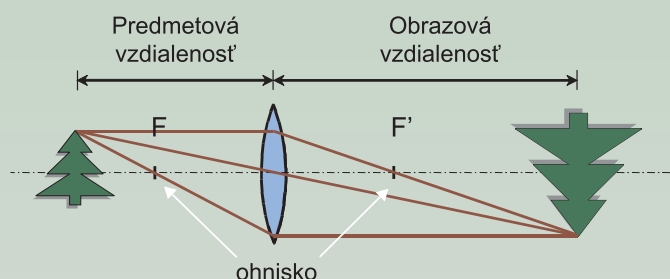
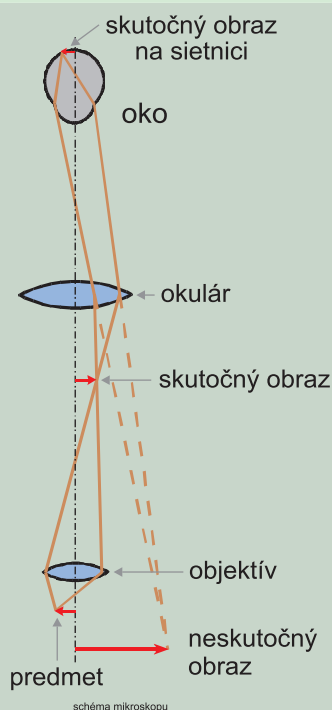


Princíp

Optický mikroskop je centrovaná sústava dvoch zložených spojných šošoviek. Predná šošovka sa nazýva objektív a má veľmi malú ohniskovú vzdialenosť. Zadná šošovka sa nazýva okulár a slúži ako lupa na zväčšenie skutočného obrazu, vytvoreného objektívom.

Lúče, ktoré sa šíria rovnobežne s optickou osou sa po prechode šošovkou sústreďujú v ohnisku.

Skutočný obraz, ktorý možno premietnuť na tienidlo, sa tvorí v určitej vzdialenosti za šošovkou.



Čím je ohnisková vzdialenosť šošovky menšia, tým väčšie je zväčšenie, ale tým bližšie ju treba klásť k predmetu.

Veľmi krátka ohnisková vzdialenosť objektívu dovoľuje vytvoriť veľmi zväčšený skutočný obraz predmetu v tubuse, alebo na čipe CCD kamery.



História

Anglický fyzik Robert Hooke (1635 - 1703) ako jeden z prvých uskutočnil pozorovania mnohých objektov vlastnoručne zhotoveným mikroskopom. Zaviedol pojem bunky (celluly).

V roku 1655 vydal knihu Micrographia.

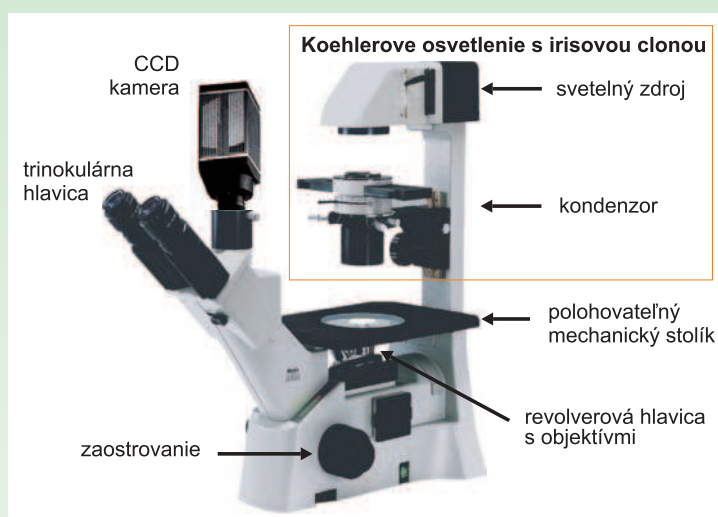
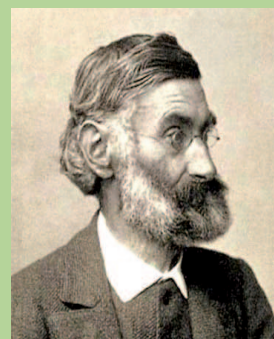


Holand'án Antonie van Leeuwenhoek (1632 - 1723) je známy zdokonalením mikroskopu a príspevom k vzniku mikrobiológie.

Pozoroval a popísal jednobunkové mikroorganizmy, v roku 1674 podal prvý presný opis červených krviniek.

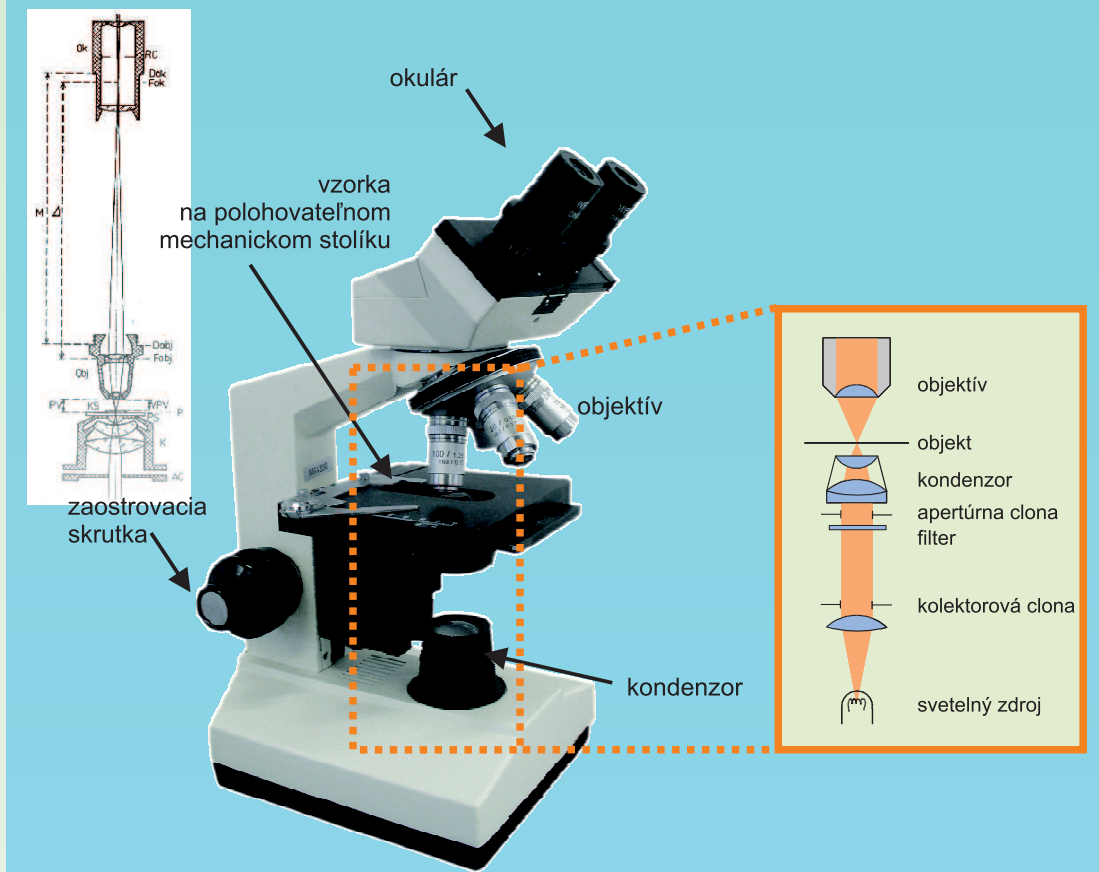


Ernst Karl Abbe (1840 - 1905) bol nemecký fyzik, astronóm a sociálny reformátor. Je zakladateľom teórie optických prístrojov. Svojou prácou začal novú epochu vo vývoji konštrukcie mikroskopov. V roku 1866 vyvinul apochromatické objektívy.



Inverzný mikroskop pre pozorovanie biologických vzoriek

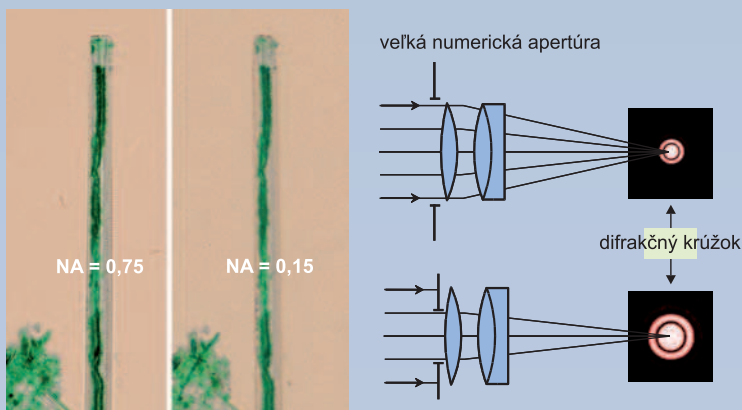
KONŠTRUKCIA MODERNÉHO OPTICKÉHO MIKROSKOPU



Rozlíšenie

Lúče svetla sa nemôžu ani v ideálnom prípade zbíhať do geometrického bodu. Z vlnovej povahy svetla vyplýva, že obrazom bodového zdroja je vždy tzv. difrakčný krúžok.

Difrakčný krúžok je tým menší, čím väčší je uhol, pod ktorým sa lúče svetla zbíhajú. Tento uhol má pre tvorbu obrazu kľúčový význam a charakterizuje ho tzv. numerická apertúra (NA).



Obraz riasy, získaný pomocou objektívu s rôznou numerickou apertúrou.

$$d = \frac{\lambda}{2n \sin \alpha}$$

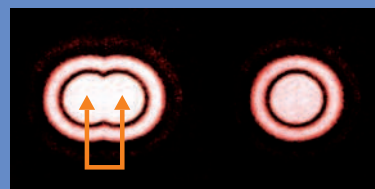
Objektív je najdôležitejšou súčasťou optického mikroskopu. Kvalita objektívu určuje kvalitu výsledného zobrazenia vzhľadom k rozlišovacej schopnosti, veľkosti zorného poľa, hĺbky ostrosti, svetelnosti systému a korekcie optických chýb.



Rozlišovacia schopnosť (R) je najmenšia vzdialenosť dvoch bodov, ktorú môžeme v obraze rozlíšiť.

Je daná numerickou apertúrou, vlnovou dĺžkou svetla a indexom lomu prostredia.

$$R = \frac{0.61\lambda}{N.A.}$$



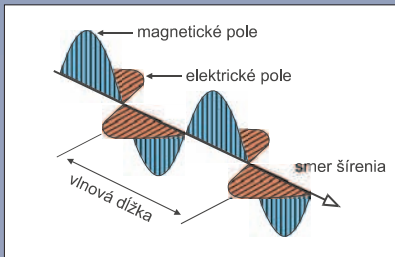
medza rozlíšiteľnosti

Polarizované svetlo

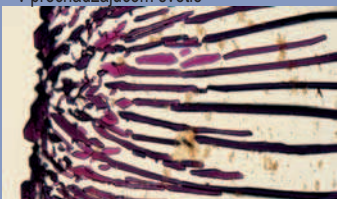
Polarizácia

znamená obmedzenie kmitov elektromagnetického poľa do jednej roviny. Vysoko organizované materiály (kryštály) stáčajú rovinu polarizácie, sú preto viditeľné na tmavom pozadí.

Elektromagnetická vlna



Kryštály manganistanu draselného v prechádzajúcom svetle



v polarizovanom svetle

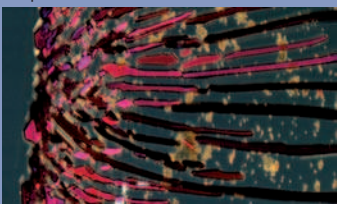
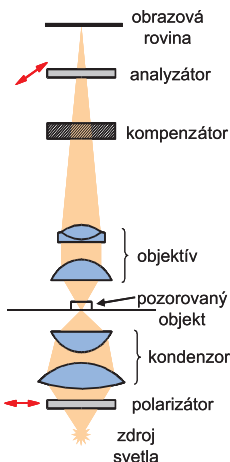


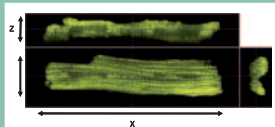
Schéma polarizačného mikroskopu



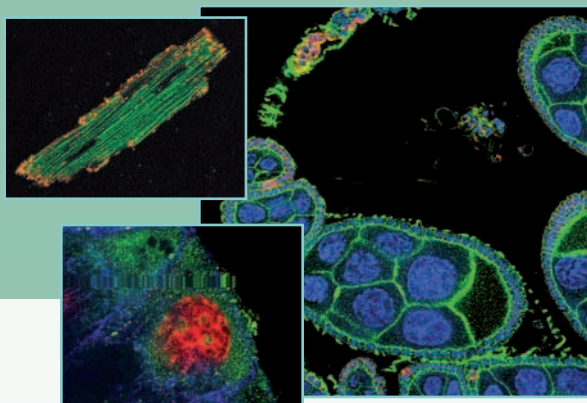
Biomedicína

Fluorescencia má veľký význam v biológii, medicíne, farmakológii, genetike a príbuzných odvetviach.

Pomocou špeciálnych farbív môžeme sledovať aktivitu mitochondrií v srdcovej bunke



Zobrazenie vývoja zárodokov Drozofily, získané s pomocou fluorescenčne označených proteínov.

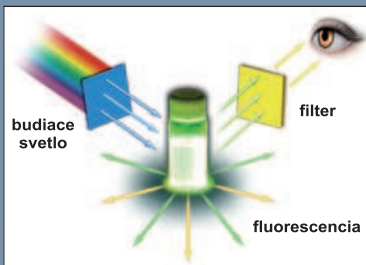


Množstvo objektov, ktoré sú predmetom pozorovania, sú transparentné alebo čiastočne transparentné preparáty. Na zvýraznenie kontrastu sa v mikroskopii používajú viaceré techniky farbenia a osvetľovania vzorky.

Fluorescencia

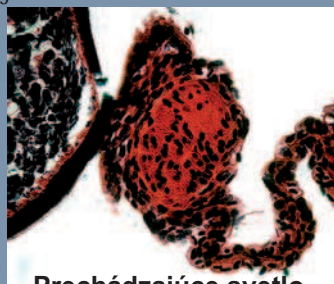
Fluorescencia

je schopnosť niektorých látok svetielkovať po ich osvetlení vhodným zdrojom. Fluorescenčné svetlo má inú farbu ako svetlo použité na jeho vybudenie, čo je možné využiť na dosiahnutie vysokého kontrastu.

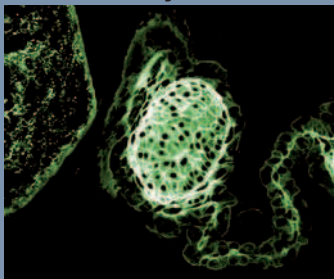


Fluorescenčná mikroskopia zaznamenáva dnes rozmach najmä vďaka bohatému výberu fluorescenčných farieb a proteínov pre vizualizáciu organel, bunkových procesov, tkanivových štruktúr a pod.

Fluorescenčný kontrast dovoľuje zobrazovať štruktúry buniek a tkanív, ktoré sú v prechádzajúcom svetle inak neviditeľné.



Prechádzajúce svetlo



Fluorescencia

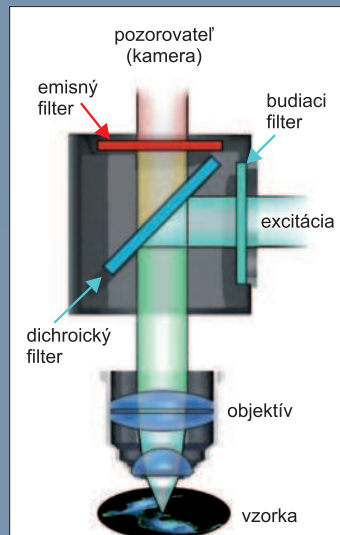
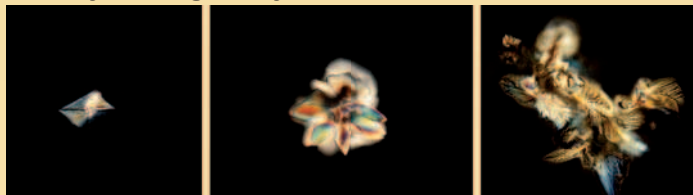


Schéma fluorescenčného mikroskopu

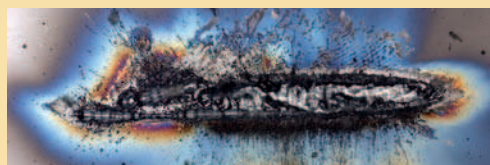
Materiálový výskum

Polarizované svetlo sa používa pri výskume vlákien a polymérov, v geológii a mineralológii, metalografii a chémii.

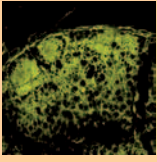
Rast kryštálov glukózy z roztoku



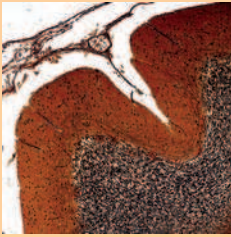
Snímka zvaru v polarizačnom svetle



Mozog



Mozog je riadiace nervové centrum organizmu. Skladá sa z hustej siete buniek - neurónov.



Neuróny v mozgovej kôre dospelého stavovca

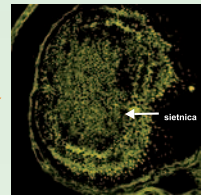
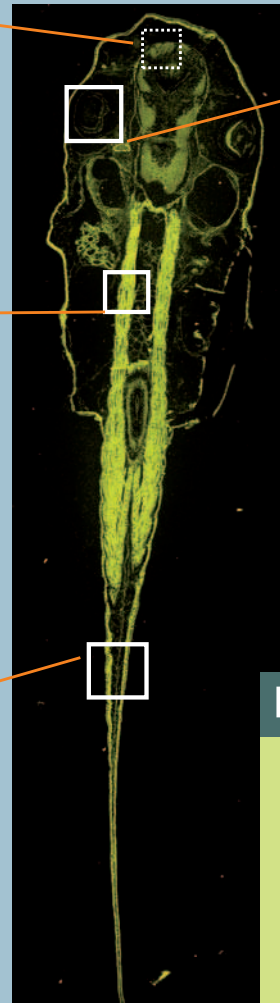
Na tejto strane sú snímky histologických preparátov žaby v štádiu zárodka a v dospelosti, získané pomocou mikroskopie v prechádzajúcom svetle a pomocou fluorescenčnej mikroskopie (snímky s čiernym pozadím).

Obojživelníky (Amphibia)

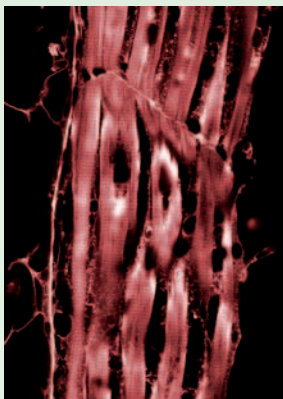
tvoria prechod medzi vodnými a suchozemskými stavovcami. Larválne štádium prekonávajú vo vodnom prostredí, kedy larvy dýchajú žiabrami. Dospelé jedince majú vytvorené pľúca a dýchajú atmosférický kyslík.

Žaba - žubrienka

Histologický rez telom žaby v larválnom štádiu snímaný v prechádzajúcom svetle - vľavo a s pomocou fluorescencie - vpravo.



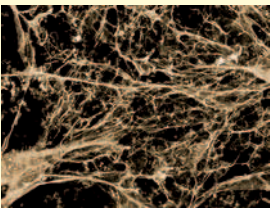
Bunky oka, detail



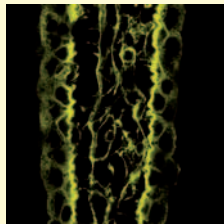
Bunky kostrových svalov sú zoskupené do vlákien, ktoré umožňujú mozgom kontrolovaný pohyb zvierat'a

Chrbtica

Kostné bunky dospelého stavovca tvoria pevnú sieť - oporu pre ostatné tkanivá a orgány



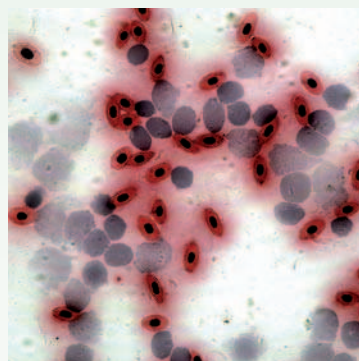
Zárodok chrbtice v tele žubrienky



Črevo dospelaj žaby sa skladá z mnohých záhybov (klkov), ktoré slúžia na vstrebávanie živín získaných z potravy.

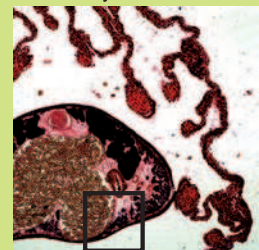


Červené krvinky zásobujú organizmus kyslíkom, biele krvinky mu poskytujú imunitnú ochranu.



Pľúca

Dýchacím orgánom dospelých žiab sú pľúca. Anatómia pľúcneho tkaniva dovoľuje prísun kyslíka priamo k červeným krvinkám.



Prie rez tkanivom pľúc dospelaj žaby



Červené krvinky